

低聚木糖液中色素脱除过程的初步探讨*

蒋琦霞¹, 杨瑞金², 孙中国³, 郁全丰³

1(江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡, 214122) 2(江南大学食品学院, 江苏无锡, 214122)

3(山东丰源中科生态科技有限公司, 山东枣庄, 277300)

摘要 用 Superdex™ Peptide 10/300GL 凝胶过滤色谱和紫外吸收光谱法对低聚木糖液中的色素进行初步分析结果表明, 爆破秸秆水解液中的色素主要包括以下 3 种: (1) 相对分子质量在 5 000 左右的黑色素, 主要来自于原料; (2) 相对分子质量在 500 左右的焦糖色素和酸降解色素, 主要来自于爆破预处理; (3) 相对分子质量在 350 左右的木质素, 主要在酶解过程中产生的。酸析处理可以很好的去除相对分子质量在 350 左右的木质素; 活性炭主要吸附的是相对分子质量在 500 左右的焦糖色素和酸降解色素, 另外也会吸附部分黑色素。相对分子质量截留为 3 000 的膜超滤主要截留的是高相对分子质量的色素和杂质。

关键词 色素, 紫外吸收光谱, 凝胶过滤色谱

以爆破秸秆为原料制备的低聚木糖中含有多种色素, 主要包括: 低聚木糖制备过程中生成的可溶性木质素; 低聚木糖生产过程中的成色反应产生的色素, 成色反应主要有^[1], (1) 焦糖化反应, 其反应生成焦糖色素, (2) 木糖等还原糖与玉米芯中的氨基酸的美拉德反应, 其反应生成类黑精色素, (3) 木糖等还原糖的酸降解反应。还原糖酸降解生成色素的机理复杂, 生成的色素也相当复杂。

凝胶过滤色谱^[2]广泛用于甘蔗、甜菜糖等的色素分离, 其原理是根据交联葡聚糖的分子筛效应, 使相对分子质量较大的物质先从凝胶柱中流出而相对分子质量较小的物质后出来。凝胶的交联度决定了其相对分子质量的分级范围, Superdex™ Peptide 10/300GL 相对分子质量分级范围为 300~3 000。对于糖液中的色素分离, Superdex™ Peptide 10/300GL 比较适合。

本文主要利用 Superdex™ Peptide 10/300GL 对低聚木糖生产过程和脱色过程中的色素变化进行了初步分离, 再利用紫外吸收光谱法对分离出的色素物质进行分析判断。

1 材料和方法

1.1 实验仪器

Superdex™ Peptide 10/300GL, 瑞典 GE Healthcare 公司; basic 型 AKTA purifier 层析仪, 瑞典 GE Healthcare 公司; UV-2802PSC 型紫外可见分

光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司。

1.2 主要试剂

磷酸氢二钠, 国药集团化学试剂有限公司; 磷酸二氢钠, 中国医药(集团)上海化学试剂公司; 氯化钠, 国药集团化学试剂有限公司。

1.3 实验方法及分析

1.3.1 水解液脱色

取一定量的低聚木糖酶水解液, 浓缩, 酸析处理脱色, 静止后, 离心得酸析处理液。取一定量的酸析处理液, 稀释, 按质量比加入一定量的活性炭, 控制条件, 进行脱色处理, 离心得活性炭处理液。取一定量的活性炭处理液, 稀释, 控制条件进行超滤处理得超滤处理液, 浓缩, 得低聚木糖糖浆产品。

1.3.2 水提取液

取爆破秸秆 100 g, 加入 500 mL 去离子水, 室温放置 24 h, 过滤取滤液。滤液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后备用。

1.3.3 秸秆水解液^[3]

采用实验室制备的低聚木糖溶液。取一定量的爆破秸秆加到 5 L 不锈钢酶反应器中, 按质量比加入 7.5 倍的去离子水, 调节并维持反应体系 pH 6.0, 加入 198 U/g(干基)的黑曲霉木聚糖酶, 在 53℃ 下反应 12 h。反应结束后, 沸水浴煮沸 5 min 灭酶, 冷却至室温, 3 000 r/min 离心 15 min。水解液样品经 0.45 μm 微滤后进行成分分析或进行后续精制处理。

1.3.4 酸析处理液^[4,5]

于 100 mL 烧杯中加入 50 mL 固形物含量约为 30% 的低聚木糖液, 调节至 pH 3, 常温下静置 20 min 后在 3 000 r/min 离心 15 min。取上清液, 经 0.45

第一作者: 硕士研究生(杨瑞金教授为通讯作者)。

* 国家“十一五”科技支撑计划课题资助(No. 2006BAD271303)

收稿日期: 2007-12-14, 改回日期: 2008-03-10

μm 微滤后进行成分分析或进行进一步精制处理。

1.3.5 活性炭处理液^[6]

于 150 mL 锥形瓶中加入 50 mL 低聚木糖液和 15% (碳水化合物总含量) 活性炭, 塞好橡皮塞, 将该锥形瓶放入 80℃ 的恒温振荡水浴中振荡频率振荡一定时间。结束后, 加少量硅藻土过滤得脱色液。脱色液经 0.45 μm 微滤后进行成分分析或进行进一步精制处理。

1.3.6 超滤膜处理液^[7]

量取 1 200 mL 6.8% 低聚木糖溶液, 在 0.05 MPa 和 40℃ 的条件下过相对分子截留质量为 3 000 的超滤膜。操作结束后用水和清洗剂清洗系统使其恢复到操作前膜的水通量。

1.3.7 色素的柱层析分离

层析分离法: 色谱仪: basic 型 AKTA purifier 层析仪; 色谱柱: Superdex™ Peptide 10/300GL; 柱分离参数: (1) 用 2~3 倍床体积 (一个床体积为 24 mL), pH 7.2, 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液, NaCl 0.25 mol/L, 以 0.5 mL/min 的流速通过凝胶床, 使凝胶平衡。(2) 将不同工艺过程提取的色素物质稀释到合适倍数, 取 0.1 mL 加入到凝胶床用 pH 7.2, 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液, NaCl 0.25 mol/L, 以 0.3 mL/min 的流速进行洗脱, 每隔 10 min 收集器收集一管, 最后进行紫外检测。(3) 用 1~2 倍床体积, pH 7.2, 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液, NaCl 0.25 mol/L, 以 0.5 mL/min 的流速通过凝胶床, 使凝胶平衡。用 1 倍床体积的 20% 乙醇, 以 0.5 mL/min 的流速通过凝胶床, 保护凝胶。

标准物质层析分离见图 1。

洗脱体积从高到低分别为 0.1 mg/mL 甘氨酸 (相对分子质量 75); 0.1 mg/mL 胞啉 (相对分子质量 246); 0.1 mg/mL LV_{B_2} (相对分子质量 1 355); 2 mg/mL 抑肽酶 (相对分子质量 6 512); 2 mg/mL 细胞色素 C (相对分子质量 12 500)。5 种物质相对分子质量的对数与洗脱体积之间的关系见图 2。

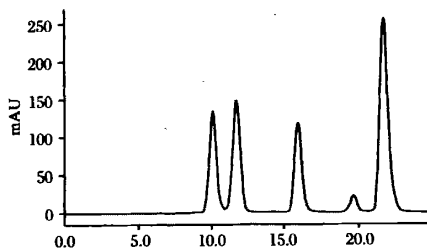


图 1 不同相对分子质量物质的层析图洗脱体积/mL (mAU-吸光度单位 1/1 000, 图 4、图 8、图 9 同)

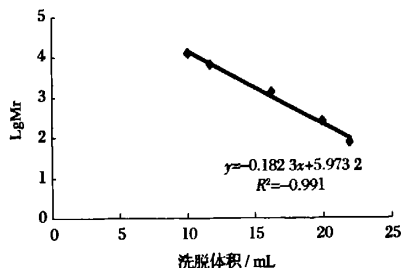


图 2 各物质相对分子质量 LgMr 与洗脱体积之间的关系

1.3.8 色值测定方法^[8]

将待测低聚木糖液调节至 pH 7.0±0.1, 后经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 分别测滤液的固形物含量和在 420nm 处的吸光值。

色值计算:

$$\text{色值} = \frac{-\lg T_s}{b \times C} \times 1\,000 = \frac{A}{b \times C} \times 1\,000$$

式中: T_s , 糖液的透光率; A , 糖液的吸光度; b , 比色皿的厚度 (cm); C , 糖液浓度 (g/mL)。

脱色率计算:

$$\text{脱色率}/\% = \frac{\text{脱色前色值} - \text{脱色后色值}}{\text{脱色前色值}} \times 100$$

2 结果与讨论

2.1 低聚木糖制备过程中的样品的色值变化

以爆破秸秆为原料酶法制备的低聚木糖溶液中各阶段的色值变化见表 1。

表 1 低聚木糖制备各阶段色值的变化

制备阶段	水提取液	秸秆水解液	酸析处理液	15% 活性炭处理液	超滤膜处理液
样品色值	2.22×10^5	2.53×10^5	1.5×10^5	2.84×10^4	7 800

由表 1 可见, 低聚木糖液中的色素大部分来自于原料秸秆和爆破处理, 而酶水解过程中, 部分游离木质素转化为可溶性木质素钠盐使得色值增加, 但是表

1 中酶解液色值增加不是很明显, 是因为色值计算中以固形物含量为基础, 计算的是单位固形物的色素含量。而酶解过程固形物含量有所增加, 使得色值计算

值偏低。后续精制过程中酸析处理可以除去一半色素,活性炭进一步强化了脱色效果,超滤膜处理主要除去低聚木糖溶液中的大分子物质,以进一步提高低聚木糖的纯度。

2.2 低聚木糖制备过程中样品色素的初步分析

脱色原料低聚木糖液的紫外扫描图谱见图3。由图3可知,低聚木糖液中色素紫外吸收有3个主要吸收峰,分别在200、280、320 nm处,说明低聚木糖液中色素成分比较复杂,其中最大吸收峰在200 nm左右,因此,选择紫外吸收的波长为200 nm。

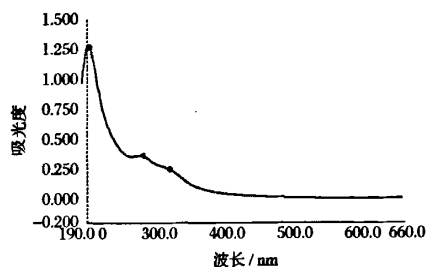


图3 低聚木糖液全波长扫描图

低聚木糖制备各个步骤样品中色素层析分离和紫外检测见图4,检测波长为200 nm。

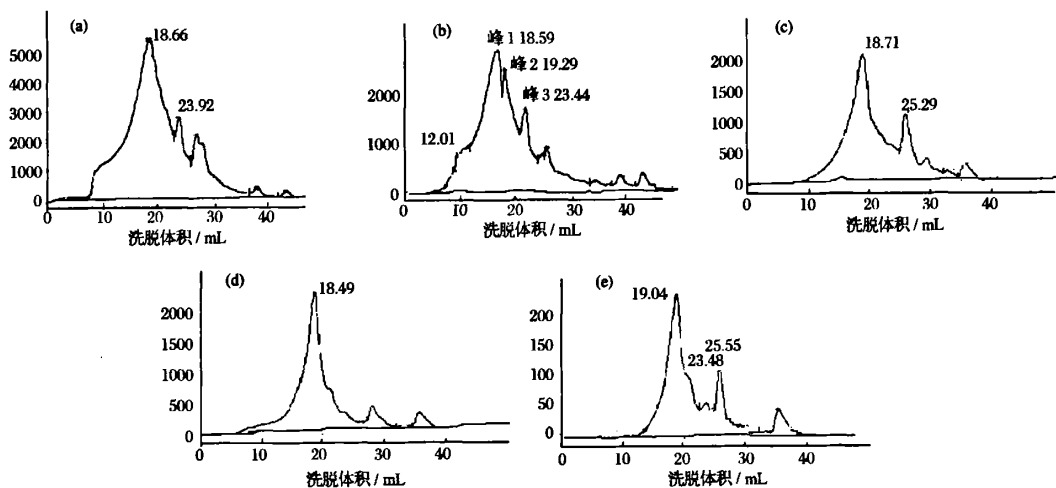


图4 低聚木糖生产过程中色素的变化

(a)水提取液;(b)水解液;(c)酸析处理液;(d)15%活性炭处理液;(e)超滤膜处理液

图5是对应于图4-b水解液中相对分子质量在5 000左右的大分子色素的全波长扫描图,其最强吸收峰在200 nm左右。据文献报道^[1,9],相对分子质量在5 000左右的色素可能是原料在采收、加工和储运过程的黑色素,与报道的黑色素特征吸收波长比较相似。

从图4-a、图4-b可见,酶解前后层析图变化较大,低聚木糖溶液中对应该洗脱体积为19.30 mL左右,即相对分子质量350左右的色素明显增加。说明酶解过程中形成的相对分子质量在350左右的色素较多。洗脱体积在12 mL左右,即相对分子质量在5 000左右的色素吸收稍微变强。而洗脱体积为18.50 mL左右,即相对分子质量在500左右的色素变化不大。从图4-c可见,酸析处理后低聚木糖溶液中对应该图4-b中峰2相对分子质量在350左右的色素几乎不见。说明酸析脱色可以很好的去除分子质量在350左右的色素。而相对分子质量为500左右的色素也有部分减少。从图4-d可见,15%活性炭进一步处理后,相对分子质量为500左右的色素吸收相对减弱很多,而相对分子质量在5 000左右的大分子色素吸收也要弱的多,可见活性炭可以很好的吸附相对分子质量在500左右的色素,以及相对分子质量在5 000左右的大分子色素。从图4-e可见,截留相对分子质量3 000的膜超滤处理后,大分子质量色素吸收几乎不见,相对分子质量为500左右的色素吸收也要弱的多。所以,超滤处理可以很好的去除大分子质量的色素和杂质。

图6是对应于图4-b水解液层析图中峰1,相对分子质量在500左右的色素分子的全波长扫描图。由图6可见,相对分子质量在500左右的色素在220、280 nm也有很强的吸收。这与文献报道^[1,10]的焦糖色素的特征吸收峰极为相似。由于秸秆中一些易水解多糖在高温高压下会水解为单糖,这些糖类物

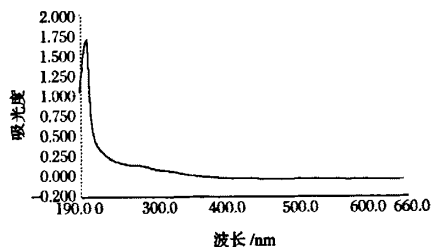


图5 水解液层析图中洗脱体积在12.01的色素所对应的全波长扫描图

质在弱酸、高温、高压下极易形成焦糖色素和糖类酸降解色素等,因此可以认为这部分色素是爆破过程中产生的焦糖色素,也可能是糖类的酸降解色素^[1,10]。

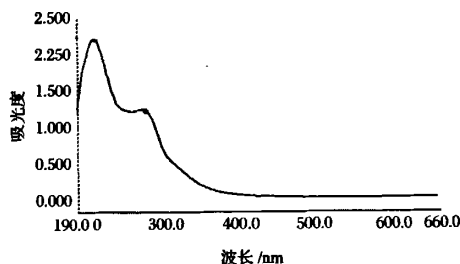


图6 水解液层析图中峰1所对应的全波长扫描图

图7是对应于图4-b水解液层析图中峰2,相对分子质量在350左右的色素分子的全波长扫描图。由图7可见,相对分子质量在350左右的色素在300 nm左右有较宽的吸收,与文献报道^[11]的木质素的紫外特征吸收峰很相似,因此可以认为这部分为木质素。

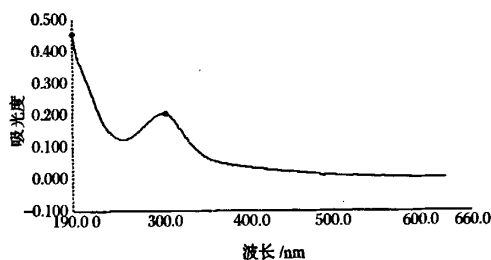


图7 水解液层析图中峰2所对应的全波长扫描图

结合图4和图7分析可知,酸析处理主要去除的是相对分子质量在350左右的可溶性木质素钠盐分子,从图8的酸析沉淀物的层析图,同样可见,酸析沉淀物中主要是洗脱体积为19.30 mL,即相对分子质量为350左右的色素分子,与前面分析的基本一致,所以酸析处理主要去除的是木质素。

结合图4~图6可得,15%活性炭进一步处理主

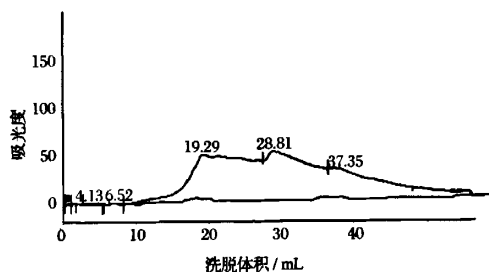


图8 酸析沉淀层析图

要去除的是相对分子质量在500左右的焦糖色素和酸降解色素以及部分相对分子质量为5000左右的黑色素。

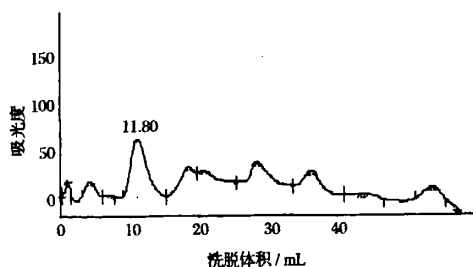


图9 3000膜超滤截留液的层析图

图9是超滤截留液的层析图谱,由图9可见超滤截留液中主要为在洗脱体积为12 mL左右,即相对分子质量在5000左右的大分子色素,同时也有少量的低相对分子质量的色素。与图4的分析一致,可见超滤处理主要去除的是大分子质量色素和杂质。

3 结论

爆破秸秆水解液中的色素主要有相对分子质量在5000左右的黑色素,相对分子质量在500以上的焦糖色素和酸降解色素以及相对分子质量在350左右的木质素。低聚木糖液中的色素主要来自原料和爆破处理,而酶解过程会形成大量的可溶性木质素钠盐,增加色素含量。酸析处理可以很好的去除相对分子质量为350左右的木质素。活性炭脱色主要吸附的是吸附相对分子质量为500左右的焦糖色素和酸降解色素,另外也会部分黑色素3000膜超滤主要截留的是大分子质量色素和杂质。相对分子质量分级范围为300~3000的Superdex™ Peptide 10/300GL层析柱可以很好的分析低聚木糖液中的色素组成。

参考文献

- 1 Shor M, Broughton N W, Dutton J V, et al. Factors af-

- fecting white sugar colour[J]. Sugar Technology Review, 1984, 12: 1~99
- 2 杨瑞金, 黄海, 王璋. 低聚木糖液色素的初步分析[J]. 食品工业科技, 2003, (4): 62~69
 - 3 蒋琦霞, 杨瑞金, 丛明, 等. 酶水解爆破秸秆制备低聚木糖[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(11): 72~77
 - 4 蔡超, 于辉. 酸析-絮凝法处理造纸黑液[J]. 辽宁化工, 2006, 6, 35(8): 479~481
 - 5 刘晓涛, 李丽红. 酸析木质素-絮凝沉淀技术处理造纸废水[J]. 中国给水排水, 1999, 15(12): 41~42
 - 6 黄海, 杨瑞金, 王璋. 低聚木糖的脱色工艺[J]. 无锡轻工大学学报, 2002, 3, 21(2): 125~129
 - 7 杨富国, 方正, 余世袁, 等. 膜分离技术在低聚木糖制备及乙醇发酵中的应用[J]. 林产化学与工业, 2002, 3, 22(1): 77~81
 - 8 秦志荣, 于淑娟, 高大维. 糖浆脱色阴离子交换树脂再生新方法的研究[J]. 中国甜菜糖业, 1999(8): 10~12
 - 9 沈参秋编. 糖品物色香味化学[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 1994
 - 10 Carla Guimaraes, Luis San Miguel Bento, Mamuel Mota. A study of sugar colorants through ion exchange and salt regeneration[J]. International Sugar Journal, 1996, 1 175(98): 584~587
 - 11 程贤胜, 刘晓玲. 玉米秸秆发酵残渣中木质素的分离与性质研究[J]. 现代化工, 2006, 10, 26(2): 99~101

Studies on the Colorants Removal Process in Xylooligosaccharides(XOS)

Jiang Qixia¹, Yang Ruijin², Sun Zhongguo³, Yu Quanfeng³

1(State Key Laboratory of Food Science & Technology(Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

2 (School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 224122, China)

3 (Shandong Fengyuan Zhongke Ecology Technology Co., Zaozhuang 277300, China)

ABSTRACT The analysis of colorants in XOS by SuperdexTM Peptide 10/300GL gel permeation chromatography and ultraviolet spectra was performed. Results showed that The colorants in XOS could be divided into three groups: black pigment (M_w 5000), the caramel and acid decomposition pigment of xylose or xylo-oligosaccharides (about M_w 500) and the lignin (about M_w 350). Acid-Flocculation was able to remove lower molecular colorants (about M_w 350). Activated carbon was able to adsorb caramel and acid decomposition (about M_w 500). Ultrafiltration membranes (molecular weight cut-off 3000) was able to remove higher molecular colorants.

Key words colorants, ultraviolet spectra, gel permeation chromatography

会
讯

第12届亚太化工联盟大会暨化工展览会将在大连举行

第12届亚太化工联盟大会暨化工展览会将于2008年8月4~6日在大连世界博览广场举行。亚太化学工程联盟(the Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering, 英文缩写: APCChE)是亚洲和亚太地区的化学工程组织的联盟,其目标是:建立和保持化学工程领域的组织之间的联系,通过化学工程进展造福人类;与其他(洲)化学工程联盟合作组织国际化学工程大会;促进与化学工程有关的信息和实践的交流和共享;促进联盟内部国家间的化学工程师的交流。APCChE的重要活动之一就是每2年一届的APCChE大会,至今已是第11届,该会议在亚太地区乃至全球化工界享有盛名。中国于2004年加入该联盟,成为该组织的第13个成员。第12届亚太化工联盟大会将在中国举行;按惯例,中国化工学会派员先后出任第11届和第12届亚太化工联盟副主席和主席。中国化工学会全称中国化学工业与工程学会,英文译名为 Chemical Industry and Engineering Society of China, 缩写为 CIESC。学会成立于1922年4月23日。中国化工学会是由全国化工科技工作者自愿结成的、依法登记成立的、公益性的、学术性法人社会团体,是中国科协的组成部分,是发展我国化工科技事业的重要力量。

该届展会期间将有成员国的13个专业展团与会,云集来自亚太地区以及世界各地的1000余名知名专家、学者以及政府官员。主题为“化工可持续发展”,活动内容涉及:石油和化学工业结构的优化及技术提升,有效地节约和利用资源,可持续发展技术和绿色制造。专题报告或研讨涉及生物技术、能源、环保与处理、超临界流体、安全、电子、材料和表面科学、化学反应工程、流体和颗粒过程、系统和信息及模拟技术、物理特性和物理化学、分离过程、热力工程、塑料橡胶工业及其他众多方面。会务联系方式:北京市丰台区东大街南口57号A座5078室。电话:86 10-63853376;传真:86 10-63803353;E-mail:apcche@163.com; zap0934@163.com; http://apcche.siteem.com。